Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 1, Mar.-Apr., 2024, p. 1-18

Evaluation of the Effect of Chitosan/Pectin Multi Layer Edible Coating Containing Microencapsulated Cinnamon or Thyme Essential Oils on Increasing the Postharvest Shelf Life of Cucumber

Sh. Nikkhah[1], F. Shahidi[2*], M. Mohebbi[2*], F. Tabatabayi Yazdi[2]

1 and 2- Ph.D. Graduated Student and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Authors Email: fshahidi@um.ac.ir & m-mohebbi@um.ac.ir)

Dates	How to cite this article:
Received: 13.02.2022 Revised: 27.02.2022 Accepted: 06.03.2022 Available Online: 15.05.2022	Nikkhah, Sh., Shahidi, F., Mohebbi, M., & Tabatabayi Yazdi, F. (2024). Evaluation of the effect of chitosan/ pectin multi layer edible coating containing microencapsulated cinnamon or thyme essential oils on increasing the postharvest shelf life of cucumber. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *20*(1), 1-18. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75208.1146

Introduction

Cucumber is an economically important crop, containing vitamins, minerals, antioxidants, and flavonoids. However, due to loss of weight and firmness, microbial contamination, mechanical damage, and yellowing, the storage duration of cucumber is limited to 3–5 days at room temperature. Therefore, pretreatments are crucial for prolonging its shelf life. Chitosan is a cationic polysaccharide and can interact electrostatically with anionic, partially demethylated pectin. Besides, chitosan has inhibitory effects on fungal rot and prevents weight loss in fruits. Pectin can form excellent films. Because of increasing demand to reduce synthetic chemicals as antimicrobial agents, substances derived from plants, such as essential oils, can play a significant role in the future. Several essential oils and essential oil components have shown antimicrobial activity against spoilage and pathogenic microorganisms during fruit and vegetable storage. Essential oils of thyme and cinnamon contained phenolic groups have been found to be most consistently effective against microorganisms, however, essential oils are volatile and irritant. Therefore, forming an inclusion complex using b-cyclodextrin can improve solubility, control volatile, and induce off-flavors and unpleasant odor of the essential oils. The objectives of this study were to develop the microencapsulated thymol (thyme) and trans-cinnamaldehyde (cinnamon) essential oils to produce antimicrobial agents and subsequently evaluate the effectiveness of edible coating made of chitosan and pectin containing microencapsulated trans-cinnamaldehyde or thymol essential oils to improve qualitative and quantitative characteristics and shelf life of cucumber.

Materials and Methods

The inclusion complexes of trans-cinnamaldehyde and thymol in beta-cyclodextrin (CD) were prepared separately by freeze-drying. Each essential oil was dispersed in 1000 ml of beta-cyclodextrin aqueous solution (16 mmol/L, 18.15 g) in molecular ratio 1:1 (2.4 gr thymol, 2.11 gr trans-cinnamaldehyde) and mixed in a laboratory stirrer for 24 hour at room temperature , then frozen (-70 ºc) and freeze-dried (<20Pa, 48 h). Lyophilized samples were stored inside a freezer (-20 ºc) until further use. Cucumbers cv. Nagene with uniform size, appearance, ripeness and without mechanical damage or fungal contamination were selected. Then They were then sanitized by immersion in chlorine solution (150 mg/kg) for 1 min and air dried. Edible coatings were prepared as three immersion solutions of chitosan, pectin, and calcium chloride ($CaCl_2$). The fruits were coated with pectin (1%) and chitosan (0-0.5%-1%) containing beta-cyclodextrin microencapsulated trans-Cinnamaldehyde or thymol each (0-0.25%-0.5%). After coating by chitosan, the fruits were immersed in 1% Calcium chloride solution to induce crosslinking reaction. After dipping step, fruits dried for 8 minutes

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75208.1146

at room temperature to remove the excess solution attached to the surface .Uncoated fruits served as control. Then fruits were preserved in cold storage (temperature: 10ºc; relative humidity: 90-95%) for 15 days. chemical (total soluble solids, titratable acidity) and physical (total color difference, Hardness, and weight loss) Characterization of fruits were measured immediately after harvest and after 5, 10 and15 days. Microbial tests (total count, mold, and yeast) were done at the end of preservation time. Analytical data were subjected to analysis of variance and factorial adopted completely randomized design and a Duncan comparison test was used.

Results and Discussion

The results showed that weight loss, total soluble solids, and the total color difference increased and hardness and titratable acidity decreased gradually in all samples during cold storage (<0.05). Chitosan and essential oils slowed down this rising or decreasing trends. Interactive effects of chitosan, essential oil type, essential oil concentration, and storage time had positive effects on these quality attributes. The fruits coated with the highest concentration of chitosan (1%) and thymol (0.5%) essential oils showed the least weight loss, loss of hardness, and color change throughout 15 days of storage. Besides thymol in comparison with trans-Cinnamaldehyde was more efficient to prevent yeasts and molds on the surface of cucumber. By increasing chitosan and essential oil amounts, the ability of inhibiting microbial growth by coating is enhanced.

Conclusion

The results of chemical, physical and microbial tests, showed that multi-layer coating solution containing chitosan 1% with thymol 0.5% was effective in extending the shelf life of cucumber .The combined usage of microencapsulated thymol essential oil and chitosan-based coating on cucumber could be considered a healthy and effective treatment that reduces microbial spoilage and preserves quality and color characteristics in cucumber and represents an innovative method for commercial application. Therefore, this coating can be used as an alternative to chemical fungicides to prevent fungal rot of cucumber and other fruits, however, it is suggested that more studies should be done in this field.

Keywords: Cucumber, Edible coating, Chitosan, Essential oils, Shelf life

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۸-۱

بررسی اثر پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان/پکتین حاوی میکروکپسول‌های اسانس‌های دارچین یا آویشن در افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت خیار

شهره نیکخواه[1]- فخری شهیدی[2]*- محبت محبی[2]*- فریده طباطبایی یزدی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

چکیده

هدف از این پژوهش استفاده از پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان و پکتین حاوی میکروکپسول‌های بتاسیکلودکسترین حاوی اسانس‌های ترانس‌سینامالدهید (دارچین) یا تیمول (آویشن) جهت افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت پس از برداشت میوه خیار بود. نمونه‌های خیار با پکتین (۱ درصد) و کیتوزان (صفر، ۰/۵و ۱ درصد) حاوی غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۲۵و ۰/۵ درصد) از اسانس‌های میکروانکپسوله شده ترانس‌سینامالدهید یا تیمول پوشش داده شدند. سپس در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد، به مدت ۱۵ روز نگهداری گردیدند. ویژگی‌های شیمیایی (مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتر) و فیزیکی (رنگ، بافت و کاهش وزن) نمونه‌های خیار در تناوب‌های زمانی پنج روزه (روز ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ام) بررسی شدند. آزمایش‌های میکروبی در پایان زمان نگهداری انجام پذیرفت. آنالیز آماری براساس آزمون فاکتوریل ۴ فاکتوره با طرح کاملا تصادفی انجام شد. در مدت نگهداری خیار در انبار سرد، میزان کاهش وزن و مواد جامد محلول در آب و تفاوت رنگی کل در میوه روند افزایشی و میزان اسیدیته قابل تیتر و سفتی بافت روند کاهشی داشت. نمونه‌های پوشش‌داده شده با بالاترین غلظت کیتوزان (۱ درصد) و اسانس (۰/۵ درصد)، کمترین درصد افت وزنی ، افت سفتی و تغییر رنگ را در طول دوره ۱۵روزه نگهداری نشان دادند. با افزایش غلظت کیتوزان و غلظت اسانس‌روغنی، توانایی فیلم‌خوراکی در ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت. تیمول در مقایسه با ترانس‌سینامالدهید توانایی بیشتری در ممانعت از رشد کپک و مخمر در سطح خیار نشان داد. به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش‌های شیمیایی، فیزیکی و میکروبی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پوشش چندلایه حاوی کیتوزان ۱ درصد و تیمول ۰/۵ درصد برای افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت میوه خیار مؤثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌روغنی، پوشش‌خوراکی، خیار، زمان ماندگاری، کیتوزان

مقدمه

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. یک محصول کشاورزی بسیار محبوب و در دسترس در سراسر جهان است، اما ماندگاری آن به دلیل واکنش‌های نامطلوبِ پس از برداشت از جمله از دست دادن آب، چروکیدگی، زرد شدن و فساد قارچی بسیار کمتر از ۱۴ روز می‌باشد (Maleki *et al.*, 2018). استفاده از پوشش‌های خوراکی برای بسته‌بندی محصولات کشاورزی علاوه بر ممانعت از خروج رطوبت و ترکیبات فرار، سبب حفظ محصول در برابر آسیب‌های فیزیکی نیز می‌شود (Lin & Zhao, 2007). تاکنون انواع متنوعی از پوشش‌های خوراکی برای افزایش عمر مفید خیار تازه مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Adetunji *et al.*, 2014; Maleki *et al.*, 2018; Moalemiyan & Ramaswamy, 2012؛ Mohammadi *et al.*, 2016). براساس نتایج پژوهش‌های پیشین مخلوط کردن ۲ تا ۳ بیوپلیمر برای ایجاد پوشش‌های چندلایه یک راه‌کار مناسب در جهت بهبود ویژگی‌های تشکیل فیلم و کارایی کلی پوشش‌های کامپوزیتی است (Sarker *et al.*, 2021). سید لوپز و همکاران (Cid-Lopez *et al.*, 2021)، از ترکیب پلی وینیل الکل و پلی وینیل استات حاوی کلرور کلسیم جهت

۱و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری و استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسندگان مسئول: Email: fshahidi@um.ac.ir & m-mohebbi@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75208.1146

پوشش‌دهی خیار استفاده کردند و در میوه پوشش‌داده شده تغییرات مثبتی در کیفیت ظاهری، رنگ و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها مشاهده نمودند.

در بین پلیمرهای طبیعی، کیتوزان به دلیل قیمت مناسب، دسترسی آسان، غیرسمی بودن و تجدیدپذیری به گزینه‌ای مناسب برای تولید فیلم بسته‌بندی تبدیل شده است. علاوه براین، کیتوزان دارای خاصیت ضدمیکروبی بر گستره وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد (Rabea *et al*., 2003). فیلم‌های کیتوزان به‌منظور استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی باید دارای ویژگی‌های مطلوب مکانیکی و ممانعت‌کنندگی در برابر رطوبت و نور باشند. هرناندز مونوز و همکاران (Hernandez-Munoz *et al*., 2006)، گزارش کردندکه استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان سبب کاهش تنفس، تأخیر در پیری، کاهش افت‌وزن و کاهش پوسیدگی در توت فرنگی می‌گردد. کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونیک است که از دی‌استیله کردن کیتین به‌دست می‌آید. این خاصیت کاتیونی امکان ایجاد پیوند الکترواستاتیک با بیوپلیمرهای آنیونی مانند پکتینی که تا حدی دی‌متیله شده را فراهم می‌آورد. پکتین و کیتوزان به‌دلیل واکنش‌های پلی‌الکترولیت بین بارهای متضاد برای ایجاد یک پوشش‌دهنده پایدار و یکنواخت برای این منظور انتخاب می‌شوند (Murodova *et al*., 2005). پکتین یک هترو پلی‌ساکارید است که از ضایعات کشاورزی که به صورت گسترده‌ای در دسترس می‌باشد استخراج می‌شود و قابلیت تشکیل فیلم خوبی دارد (Murodova *et al*., 2005).

اسانس‌های روغنی جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهی، آب گریز و بسیار فرار هستند. اسانس‌های روغنی از نظر تغذیه‌ای به‌عنوان ترکیبات ایمن شناخته شده (GRAS)[1] طبقه بندی شده‌اند (Smith *et al*., 2005). این ترکیبات علاوه بر کاربرد وسیعی که به‌عنوان طعم دهنده دارند (Attokaram, 2017)، دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد انگلی هستند (Turek & Stintzing, 2013) که منجر به کاربرد وسیع آن‌ها شده است (Perez-Santaescolastica *et al*., 2020). اسانس‌های روغنی به‌دلیل وزن مولکولی کم و در نتیجه فراریت، هنگامی که در معرض شرایط محیطی قرار می‌گیرند، به سرعت تجزیه شده و فاسد می‌شوند. لذا عموما از اسانس‌های روغنی در ترکیب با یک ماده ثانویه که نقش حامل و محافظت‌کننده را دارد، استفاده می‌شود (Rajabi *et al*., 2015). تاکنون انواع مختلف بیوپلیمرهای غذایی از جمله پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و ترکیبات آن‌ها، به‌دلیل ماهیت خوراکی، زیست تخریب‌پذیری، غیرسمی بودن و مقرون به‌صرفه بودن، برای تولید طیف وسیعی از نانو حامل‌ها جهت محافظت، به دام انداختن، ریزپوشانی و تحویل کنترل شده ترکیبات زیست فعال و مواد مغذی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Mohammadian *et al*., 2020). سیکلودکسترین‌ها از نظر فیزیکی و شیمیایی مولکول‌های باثباتی هستند و از تغییر شکل آنزیمی نشاسته به‌دست می‌آیند. سیکلودکسترین‌ها با ریزپوشانی کردن مولکول‌های آب گریز با اندازه مناسب در حفره داخلی نسبتا آب‌گریز خود سبب افزایش حلالیت و پایداری این مواد زیستی می‌شوند و از تغییرات آن‌ها در اثر اکسیداسیون، نور و گرما محافظت می‌کنند و از ایجاد بو یا طعم نامطبوع نیز جلوگیری می‌نمایند (Mourtzinos *et al*., 2008).

سیمی اوناتو و همکاران (Simionato *et al*., 2019)، ریزپوشانی اسانس‌روغنی دارچین در نانواسفنج‌های پلیمری بر پایه سیکلودکسترین را جهت کاربرد در بسته‌بندی ضدمیکروبی مواد غذایی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد ا سانس‌روغنی ریزپو شانی شده دارای قدرت ضدمیکروبی برعلیه طیفی از میکروار گانیسم های بیماری‌زا با منشاء غذایی است. همچنین ریزپوشانی به‌دلیل فراهم آوردن رهایش کنترل شده‌ی اسانس‌روغنی سبب شد در غلظت بسیار پایین‌تر نسبت به اسانس‌روغنی ریزپو شانی نشده فعالیت ضدمیکروبی بالایی داشته باشد. در تحقیق دیگری، سرنا-اسکولانو و همکاران (Serna-Escolano *et al*., 2019)، ریزپوشانی تیمول و کارواکرول با استفاده از ۲ هیدروکسیل‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین به کمک اشعه مایکروویو را مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند، تیمول ریز پوشانی شده دارای کارایی بالایی در ممانعت از رشد قارچ *Geotrichum citriaurantii* در مرکبات نسبت به حالت آزاد آن است. شهدادی ساردو و همکاران (Shahdadi Sardo *et al*., 2017)، از اتم سفر ا صلاح شده و پو شش خوراکی کیتوزان برای حفظ ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی خیار رقم رویال پژوهشی انجام دادند. نتایج آنها ن شان داد که سفتی بافت و خواص ح سی با افزایش دما و ز مان نگهداری کاهش و ا فت وزن افزایش یا فت که منجر به ا فت کیفیت نمونه‌های خیار طی دوره نگهداری شد. عزیزیان دهکردی و همکاران (Aziziyan Dehkordi *et al*., 2020) از فیلم حاوی نانو ذرات رس و ب سته‌بندی اتم‌سفر ا صلاح شده به‌منظور کاهش ف ساد و افزایش عمر ما ند گاری برش های تازه خ یار ا ست فاده کرد ند و نتیجه‌گرفتند که این پوشش‌دهنده نسبت به شاهد بار میکروبی برش‌های خیار را کاهش داد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها را بهتر حفظ کرد.

خیار به‌دلیل دارا بودن آب زیاد به سرعت رطوبت خود را از دست می‌دهد و بسیار مستعد چروکیدگی، همچنین حمله میکرو ارگانیسم‌ها به‌ویژه قارچ‌ها است. لذا کاهش زمان‌ماندگاری این محصول، در صادرات

1- Genrally Recognizied As Safe

و عرضه به بازارهای دور دست این محصول، محدودیت ایجاد کرده است. هدف از این پژوهش استفاده از پوشش چند لایه پکتین/کلرورکلسیم/کیتوزان حاوی اسانس‌های روغنی ریزپوشانی شده تیمول یا ترانس‌سینامالدهید برای پوشش‌دهی خیار تازه به‌منظور افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت آن بود.

مواد و روش‌ها

مواد و تجهیزات

بتاسیکلودکسترین، ترانس‌سینامالدهید، تیمول، کیتوزان، اسید استیک، پکتین، کلرورکلسیم و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های سیگما- آلدریچ و مرک، تهیه شدند. دستگاه‌های مورد استفاده شامل: خشک‌کن انجمادی مدل (Beta 2-8 PLUS, CHRIST Denmark)، ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، رفراکتومتر رومیزی مدل (ATAGO 3T.OGAWA Japan SEIKI,)، دستگاه بافت‌سنج مدل (CNS Farnell, Hertfordshire, UK)، اسکنر مدل (Hp Scan Jet G3010, Canada) بودند.

آماده سازی میوه خیار

خیار رقم ناگین[1] از یک توزیع‌کننده محلی، در شهر مشهد تهیه و میوه‌های یکنواخت از نظر اندازه، ظاهر و فاقد صدمه مکانیکی یا آلودگی قارچی جهت پژوهش انتخاب شدند. نمونه‌ها پس از شستشو و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم (با غلظت ۱۵۰ ppm) (Koseki *et al*., 2004)، دوباره شستشو شده، سپس در جریان ملایم هوا قرار گرفتند تا خشک شوند، تا در مراحل بعدی پوشش‌دهی و بسته‌بندی انجام پذیرد.

ریزپوشانی اسانس‌های روغنی با خشک‌کن انجمادی

اسانس‌های روغنی تیمول و ترانس‌سینامالدهید در بتاسیکلودکسترین، توسط خشک‌کن انجمادی، انکپسوله شدند. در ابتدا دو محلول آبی بتاسیکلودکسترین (۱۶ میلی‌مول بر لیتر ۱۸/۱۵ گرم) با استفاده از آب دیونیزه (pH=۷) تهیه، و به مدت ۲۴ ساعت با همزن مغناطیسی همزده شد. سپس هر کدام از اسانس‌ها جداگانه در یک محلول آبی بتاسیکلودکسترین با نسبت مولکولی ۱:۱ (۱۶ میلی‌مول بر لیتر ۲/۴۰ گرم تیمول، ۲/۱۱ گرم ترانس سینامالدهید)، در حضور توئین ۸۰ (۰/۵ درصد) پخش گردیده و حجم محلول به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و در بشر با پوشش کاغذ آلومینیومی به مدت ۲ ساعت با همزن مغناطیسی همزده شد. سپس محلول به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد توسط خشک‌کن انجمادی (فشار کمتر از ۲۰ پاسکال، ۴۸ ساعت) انکپسوله شد (Karathanus *et al*., 2007 ; Mantilla *et al*., 2013 ; Martinon *et al*., 2014). نمونه‌های منجمد خشک شده در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) جهت استفاده بعدی نگهداری شدند.

تهیه محلول‌های پوشش

کیتوزان (وزن مولکولی متوسط، کیتین دی‌استیله شده پلی د- گلوکز آمین، خلوص ۹۸-۹۵ درصد، ویسکوزیته کمتر از ۳۰ میلی پاسکال در ثانیه یا سانتی پوآز)، پکتین (اسید گالاکتورونیک بیشتر از ۷۴ درصد براساس میزان ماده خشک) و کلرورکلسیم به‌عنوان پوشش‌دهنده خوراکی به‌صورت محلول تهیه شدند. ابتدا محلول کیتوزان در غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۵ درصد و ۱ درصد وزنی/حجمی) با حل کردن مقدار مشخصی از آن در محلول اسید استیک (۱ درصد حجمی/حجمی) تهیه گردید. سپس توئین ۸۰ (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) به‌عنوان سورفکتانت و گلیسرول (۲ درصد وزنی/وزنی) به‌عنوان پلاستی‌سایزر برای بهبود خواص مکانیکی پوشش‌دهنده به محلول کیتوزان اضافه شد و یکنواخت گردید. پودر ریزپوشانی شده هر یک از اسانس‌های گیاهی درغلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد وزنی/وزنی) به محلول کیتوزان اضافه شد. محلول پکتین (۱ درصد وزنی/وزنی) تهیه شده، به‌منظور انحلال کامل، به مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی (۷۰ درجه سانتی گراد، ۳۰۰ rpm) قرار گرفت. محلول کلرورکلسیم (۱ درصد وزنی/وزنی) برای ایجاد اتصال عرضی در پلیمرها تهیه گردید (Krzemiski *et al*., 2006).

پوشش‌دهی میوه خیار

نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه به‌ترتیب در هر یک از محلول‌های پکتین، کلرورکلسیم و کیتوزان (حاوی پودر ریزپوشانی شده اسانس‌های گیاهی)، غوطه‌ور شدند. پس از پوشش‌دهی و حذف محلول‌های اضافی، میوه‌ها به‌مدت ۸ دقیقه در دمای اتاق خشک گردیدند. نمونه‌های تیمار شده و نمونه شاهد (پوشش داده‌نشده)، در سینی‌های پلاستیکی که دارای منافذی بودند، بسته‌بندی و در انبار سرد نگهداری شدند (۱۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۹۵- ۹۰ درصد). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها در تناوب‌های زمانی پنج روزه (روز ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵) و بار میکروبی در آخرین روز نگهداری ارزیابی گردید.

1- Nagene

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی نمونه‌های خیار

تعیین مواد جامد محلول در آب

درصد مواد جامد محلول، با استفاده از رفراکتومتر اندازه‌گیری شد (Gelly *et al.*, 2004).

تعیین مقدار اسیدیته قابل تیتر

اسیدیته قابل‌تیتر، با تیتراسیون توسط سود ۰/۱ نرمال تعیین و بر حسب درصد اسید مالیک محاسبه و گزارش گردید (Gelly *et al.*, 2004).

اندازه گیری میزان کاهش وزن

نمونه‌های خیار توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم در ابتدای آزمایش و نیز در فواصل زمانی معین در طول نگهداری توزین و درصد کاهش وزن براساس رابطه ۱ محاسبه گردید:

درصد کاهش وزن = (W1-W2)/W1×100 (۱)

W_1 وزن اندازه‌گیری شده قبل از نگهداری در انبار و W_2 وزن اندازه گیری شده در بازه‌های زمانی مشخص در طی نگهداری در انبار می‌باشد (Chien *et al.*, 2007).

تعیین مؤلفه‌های رنگی

مؤلفه‌های رنگی با استفاده از تکنیک پردازش تصویر مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها به کمک اسکنر تصویربرداری شدند. به‌منظور جلوگیری از ورود هرگونه نور جانبی، سطح اسکنر با پارچه کاملا سیاه و ضخیم پوشانیده شد. تصاویر با وضوح 300 dpi و فرمت JPEG ذخیره گردیدند. پس از انتقال تصاویر به رایانه، مختصات رنگی آن‌ها در فضای رنگی L* a*b* با نرم‌افزار Image j (Version 1.40g) استخراج شد. تفاوت رنگی کل که نشان‌دهنده تفاوت رنگی نسبت به زمان صفر است، با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد:

$$TCD_{Blank}=\sqrt{(L^*-L^*_0)^2 + (a^*-a^*_0)^2 + (b^*-b^*_0)^2} \quad (۲)$$

در این معادله TCD_{Blank} تفاوت رنگ کل[1] نسبت به نمونه شاهد، L^* میانگین روشنایی خیار پوشش‌دهی شده، L^*_0 میانگین روشنایی خیار شاهد، a^* میانگین قرمزی خیار پوشش‌دهی شده، a^*_0 میانگین قرمزی خیار شاهد، b^* میانگین زردی نمونه پوشش‌دهی شده و b^*_0 میانگین زردی نمونه شاهد می‌باشد (Li *et al.*, 2021; McGuire, 1992).

ارزیابی بافت

به‌منظور ارزیابی میزان سفتی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری از دستگاه آنالیز بافت استفاده شد. در این روش نیروی فشاری[2] توسط یک پروب سوزنی با قطر ۵ میلی‌متر با عمق نفوذ ثابت (۵ میلی‌متر) و با سرعت ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه نمونه‌ها را فشرده و سوراخ نمود (Omoba & Onyekwere, 2016; Hernadez-Munoz *et al.*, 2008).

ارزیابی بار میکروبی

آزمایش‌های میکروبی شامل شمارش کل باکتری‌های هوازی بااستفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار[3] و روش کشت آمیخته شمارش کلی کپک و مخمر بااستفاده از محیط‌کشت پوتیتودکستروزآگار[4] و روش کشت سطحی انجام شد. بدین منظور از رقیق‌کننده پپتون‌واتر استفاده گردید. ۱ گرم از نمونه برداشته وبه لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول پپتون واتر استریل اضافه شد و رقت‌های بعدی با استفاده از این رقت ۰/۱ تهیه گردیدند. گرمخانه‌گذاری برای شمارش کل باکتری‌های هوازی (۳۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۸ ساعت) و برای کپک و مخمر (۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۳ روز) بود. در نهایت تعداد کلنی‌های تشکیل شده مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند (ISO 4833- 1., 2013; ISO 21527-1., 2008).

آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از آزمایش فاکتوریل چهار فاکتوری در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. آزمایش‌های میکروبی با استفاده از آزمایش فاکتوریل سه فاکتوری در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. فاکتور A: مدت نگهداری (در چهار سطح، زمان ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) و فاکتور B: غلظت کیتوزان (در سه سطح ۰، ۰/۵ و ۱ درصد)، فاکتور C: نوع اسانس (در دو سطح اسانس تیمول از آویشن و اسانس ترانس سینامالدهید از دارچین) و فاکتور D: غلظت اسانس میکروکپسوله شده (در سه سطح ۰، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در صد گرم محلول پوشش دهنده) بود. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مقایسه شدند و بهترین نوع و غلظت اسانس و بهترین غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان برای میوه خیار مشخص گردید.

نتایج و بحث

خلاصه نتایج آنالیز واریانس اثرات مدت نگهداری، غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر خصوصیات کیفی میوه

1- Compressive
2- Potato Dextrose Agar
3- Total Color Difference
4- Plate Count Agar

خیار در جدول ۱، مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد که مدت نگهداری در انبار سرد، غلظت کیتوزان و غلظت اسانس بر اثرات مستقل خصوصیات کیفی میوه خیار (اسیدیته قابل‌تیتر، مواد جامد محلول در آب، کاهش وزن، سفتی بافت، تفاوت رنگ) تأثیر معنی‌داری داشته است ($p< ۰/۰۵$). البته اثر غلظت کیتوزان بر تفاوت رنگ معنی‌دار نبوده است. نوع اسانس بر اثرات مستقل هیچ یک از خصوصیات کیفی میوه خیار تأثیری نداشت.

جدول ۱- میانگین مربعات غلظت پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس و مدت زمان نگهداری بر خصوصیات کیفی میوه خیار

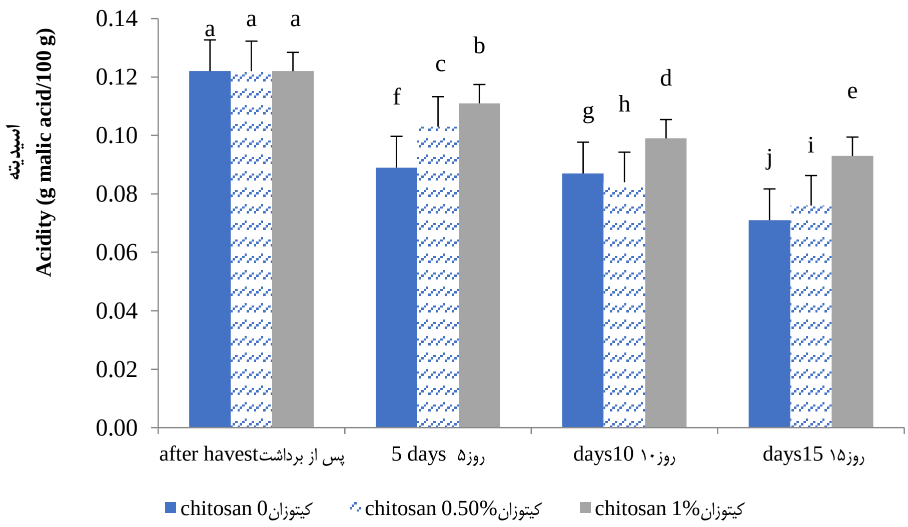
Table 1- Mean square concentration of chitosan coating, type and concentration of essence and storage time on quality characteristics of cucumber fruit

منابع تغییر Sources of variables (SOV)	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات Average Squares کاهش‌وزن Weight Loss (%)	مواد جامد محلول در آب Total Soluble Solids (%)	اسیدیته Acidity (mg malic Acid/100 g)	سفتی بافت Firmness (N)	تفاوت رنگ کل Total Color Difference
مدت نگهداری (A) (Storage Time)	3	106.57^{**}	1.17^{**}	0.018^{**}	386.52^{**}	1897.56^{**}
غلظت کیتوزان(B) (Chitosan Concentration)	2	5.45^{**}	0.17^{**}	0.004^{**}	18.06^{**}	7.23^{ns}
اثر متقابل (A*B) Interaction Effect	6	1.06^{**}	0.04^{**}	0.001^{**}	3.64^{**}	12.26^{**}
نوع اسانس(C) (Essence Type)	1	0.076^{ns}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	0.00001^{ns}	3.51^{ns}
اثر متقابل (A*C) Interaction Effect	3	1.28^{**}	0.00^{ns}	0.00^{ns}	1.59^{ns}	4.99^{ns}
اثر متقابل (B*C) Interaction Effect	2	0.62^{**}	0.02^{ns}	0.00^{ns}	7.53^{**}	27.74^{**}
اثر متقابل (A*B*C) Interaction Effect	6	0.31^{**}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	2.08^{**}	27.95^{**}
غلظت اسانس (D) (Essence Concentration)	2	3.21^{**}	0.17^{**}	0.001^{**}	104.50^{**}	20.83^{**}
اثر متقابل (A*D) Interaction Effect	6	1.18^{**}	0.03^{*}	0.0001^{*}	15.71^{**}	96.61^{**}
اثر متقابل (B*D) Interaction Effect (B*D)	4	0.14^{ns}	0.02^{ns}	0.00^{ns}	2.53^{**}	7.70^{ns}
اثر متقابل (A*B*D) Interaction Effect	12	1.46^{**}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	2.65^{**}	36.29^{**}
اثر متقابل (C*D) Interaction Effect	2	0.13^{ns}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	0.29^{ns}	60.13^{**}
اثر متقابل (A*C*D) Interaction Effect	6	0.97^{**}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	0.81^{ns}	13.96^{**}
اثر متقابل (B*C*D) Interaction Effect	4	0.16^{ns}	0.01^{ns}	0.00^{ns}	2.19^{*}	85.08^{**}
اثر متقابل (A*B*C*D) Interaction Effect	12	1.11^{**}	0.00^{ns}	0.00^{ns}	2.37^{**}	14.87^{**}
خطا (Error)	144	0.12	0.01	0.0001	0.72	3.64

*,** and ns: Significant at 5% and 10% levels of probability and non significant ,respectively

اسیدیته‌قابل‌تیتر

اسیدیته‌قابل‌تیتر در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، کاهش یافته بود (p<۰/۰۵). با افزایش میزان کیتوزان (شکل ۱) و اسانس (شکل ۲) این روند کاهشی کندتر بوده است. این روند کاهشی در سایر پژوهش‌های مربوط به تأثیر استفاده از پوشش بر اسیدیته‌قابل‌تیتر خیار تازه گزارش گردیده و دلیل آن کند شدن فعالیت‌های متابولیکی میوه و در نتیجه به تعویق افتادن تبدیل اسید به قند در اثر استفاده از پوشش‌دهنده ذکر شده است (Cid-Lopez *et al.*, 2021).

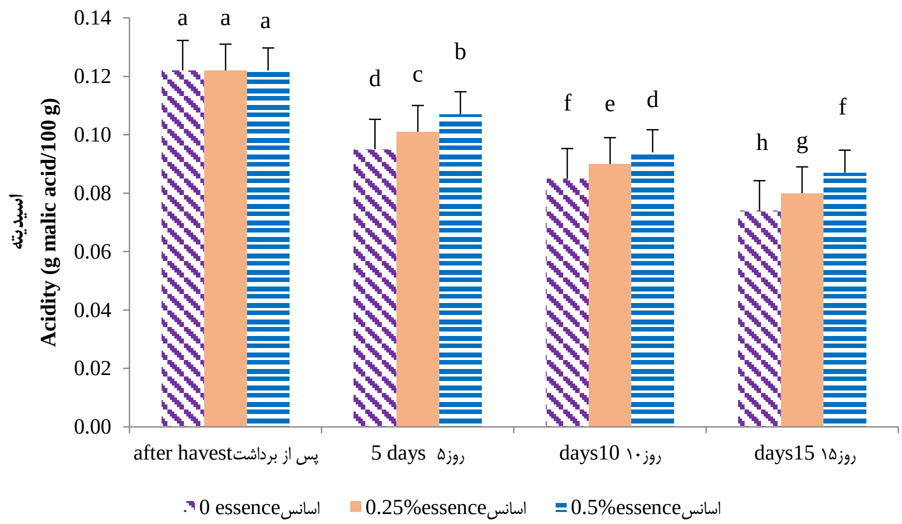


شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف پوشش کیتوزان بر اسیدیته قابل تیتر میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 1. Effect of chitosan coating concentration on titratable acidity of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر اسیدیته قابل تیتر میوه خیار در طی زمان نگهداری

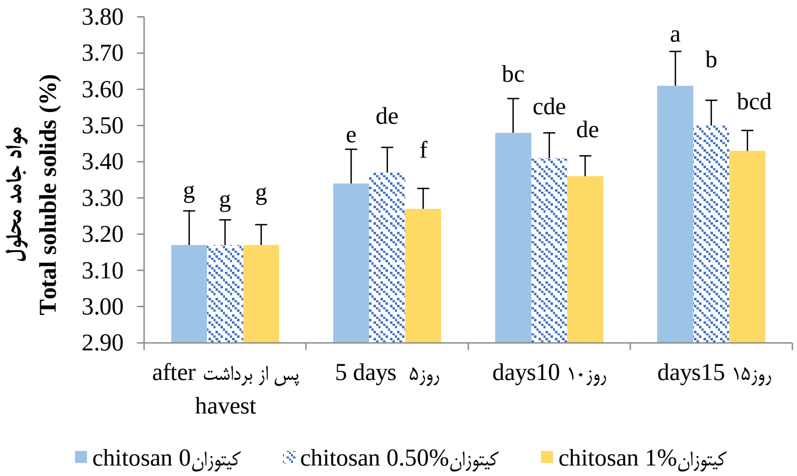
Fig. 2. Effect of essence concentration on titratable acidity of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

مواد جامد محلول در آب

بریکس تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت نگهداری، به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (p<۰/۰۵). افزایش میزان کیتوزان (شکل ۳) و اسانس (شکل ۴) سبب کندتر کردن این روند افزایشی شده است. در واقع پوشش با کاهش میزان تنفس داخلی میوه، سبب کند شدن تبدیل نشاسته به قندهای ساده و جلوگیری از افزایش شدید میزان مواد جامد محلول می‌گردد (Moalemiyan & Ramaswamy, 2012). ملکی و همکاران (Maleki *et al.*, 2018)، به‌طور مشابه در خصوص تأثیر پوشش کیتوزان، مدت نگهداری و بسته‌بندی بر میزان مواد جامد محلول در آب خیار بیان نمودندکه میزان مواد جامد محلول نمونه‌های خیار پوشش‌داده‌شده با کیتوزان با افزایش مدت نگهداری، به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. نتایج مشابهی بوسیله لی و همکاران (Li *et al.*, 2021)، در خصوص پوشش‌دهی میوه خیار گزارش شده‌است. این محققان اعلام نمودند که استفاده از اسانس روغنی اوژنول برای پوشش‌دهی خیار، سبب افزایش میزان پاسخ به تنش آن شده و در نتیجه منجر به کاهش پیری میوه می‌گردد.

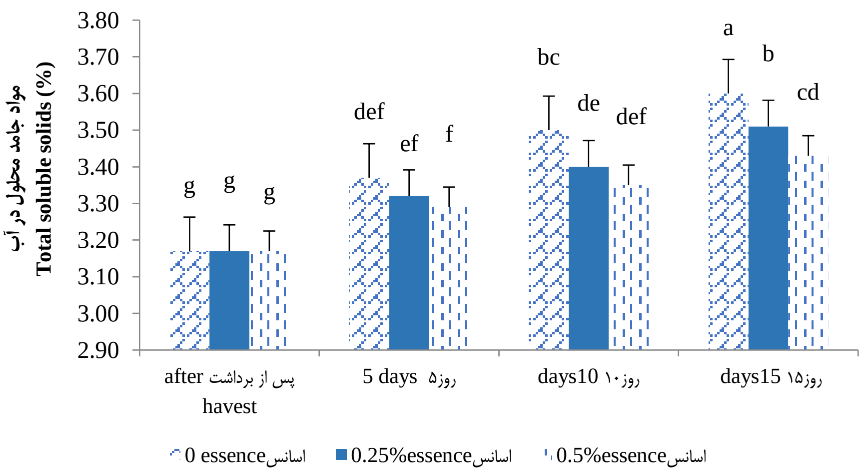


شکل ۳- اثرغلظت‌های مختلف پوشش کیتوزان بر مواد جامد محلول میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 3. Effect of chitosan coating concentration on total soluble solids of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).



شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر مواد جامد محلول میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 4. Effect of essence concentration on total soluble solids of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

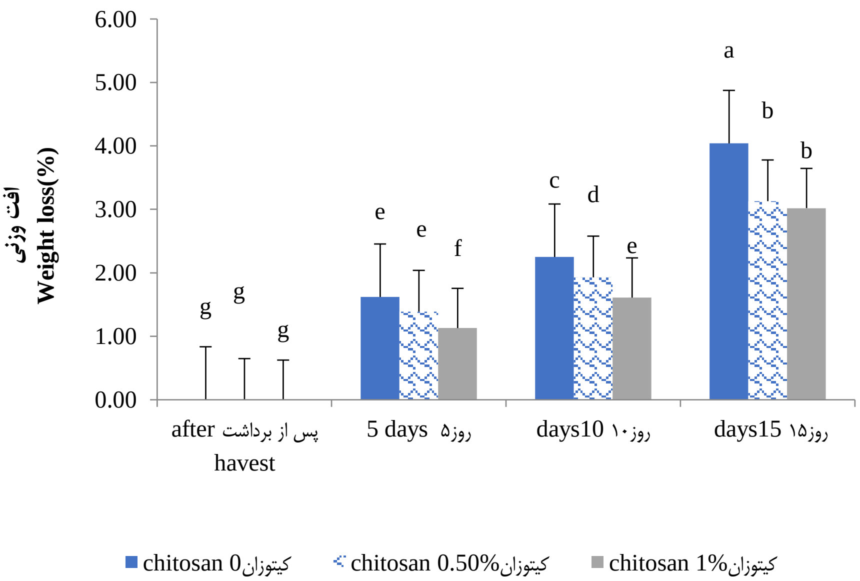
The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

افت‌وزنی

با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، میزان افت‌وزنی بطور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (p<۰/۰۵). همان‌طور که مشخص است در همه زمان‌های نگهداری، نمونه‌های حاوی پوشش کیتوزان ۱ درصد، افت‌وزنی کمتری را نسبت به کیتوزان ۰/۵ درصد و نمونه شاهد نشان دادند (شکل ۵). در طی مدت نگهداری، نمونه‌های حاوی اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای کاهش وزن کمتری بودند (شکل ۶). کاهش یافتن میزان افت‌وزنی در نمونه‌های پوشش‌داده شده نسبت به نمونه فاقد پوشش می‌تواند مربوط به ویژگی‌های ممانعت‌کنندگی فیلم دو لایه در برابر اکسیژن، بخار آب و دی‌اکسیدکربن باشد، که نهایتا منجر به کاهش خروج رطوبت خیار در طول نگهداری شده است (Araguez *et al*., 2020; Boonsiriwit *et al*., 2020). همسو با این نتایج، لی و همکاران (Li *et al*.,2021)، گزارش کردند میزان افت‌وزنی نمونه‌های خیار پوشش‌داده شده با پلی اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، در مقایسه با نمونه شاهد کمتر می‌باشد. نتایج مشابهی در خصوص سایر میوه‌ها نیز گزارش شده است. به‌عنوان مثال علی و همکاران (Ali *et al*., 2013)، گزارش کردند که میزان افت‌وزنی در میوه دراگون دارای پوشش دولایه کیتوزان به‌طور معنی داری کمتر از نمونه‌های بدون پوشش می‌باشد.

سفتی بافت

سفتی بافت در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، کاهش یافته بود (p<۰/۰۵) (شکل ۷). برهم‌کنش پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس نشان داد که با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس، افت سفتی بافت نمونه‌ها کاهش یافت و نمونه‌های خیار پوشش داده شده با کیتوزان ۱ درصد و اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای سفتی بافت بیشتری بودند (شکل ۸). کاهش سفتی بافت می‌تواند به دلیل نرم‌شدن ساختار بافتی میوه در مدت نگهداری باشد. بافت میوه در ارتباط نزدیک با ساختمان و ترکیبات دیواره سلولی آن است و کاهش سفتی بافت به دلیل کاهش یکپارچگی دیواره‌سلولی است (Eboibi & Uguru, 2017). لی و همکاران (Li *et al*., 2021)، گزارش نمودند که سفتی بافت نمونه‌های میوه خیار در طول دوره نگهداری کاهش پیدا کرد، اما نمونه‌های پوشش‌داده‌شده به‌صورت دولایه با پلی اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، دارای بافت سفت‌تری نسبت به نمونه شاهد بودند. نتایج مشابهی توسط ملکی و همکاران (Maleki *et al*., 2018)، در خصوص نمونه‌های خیار پوشش داده شده با کیتوزان گزارش شده است. این محققان اعلام نمودندکه میوه دارای پوشش نسبت به میوه فاقد پوشش از لحاظ آماری سفتی بافت بیشتری را نشان داد.

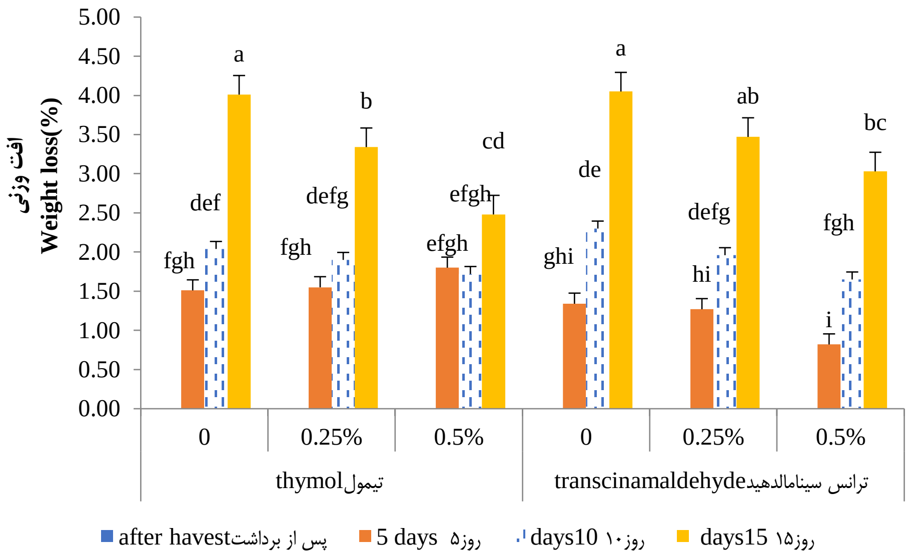


شکل ۵- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان بر افت وزنی در میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 5. Effect of chitosan coating on weight loss of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

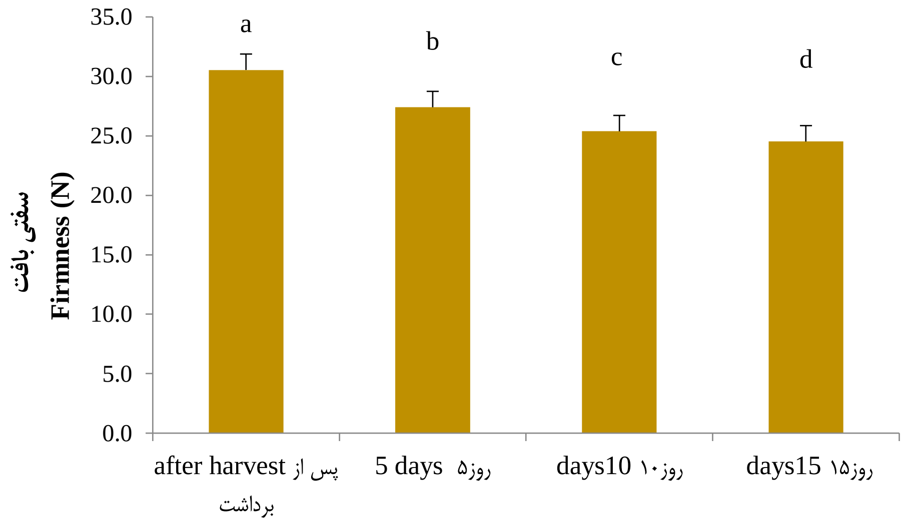


شکل ٦- اثر نوع و غلظت اسانس بر افت وزنی میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 6. Effect of essence type and concentration on weight loss of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

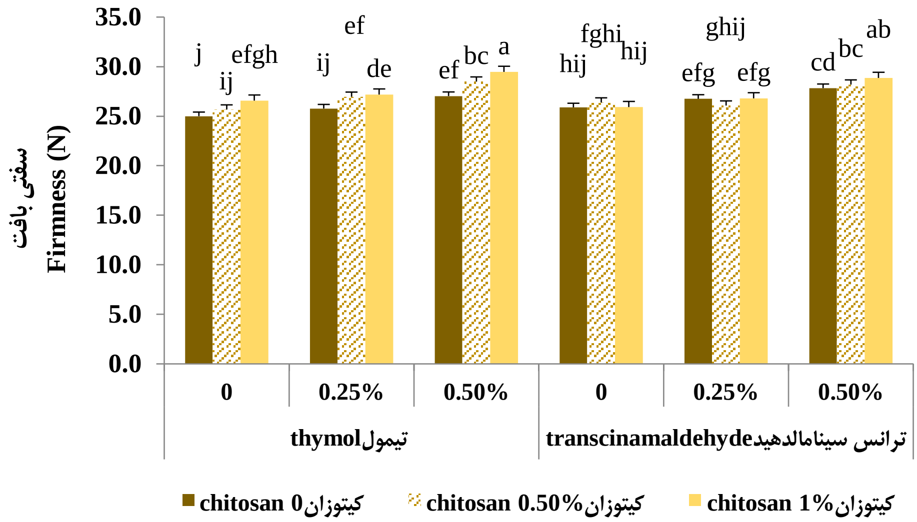


شکل ۷- اثر مستقل مدت نگهداری بر سفتی بافت در میوه خیار

Fig. 7. Independent effect of storage time on fruit flesh firmness in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).



شکل ۸- اثر پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر سفتی بافت در میوه خیار

Fig. 8. Effect of chitosan coating, and essence type and concentration on fruit flesh firmness in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

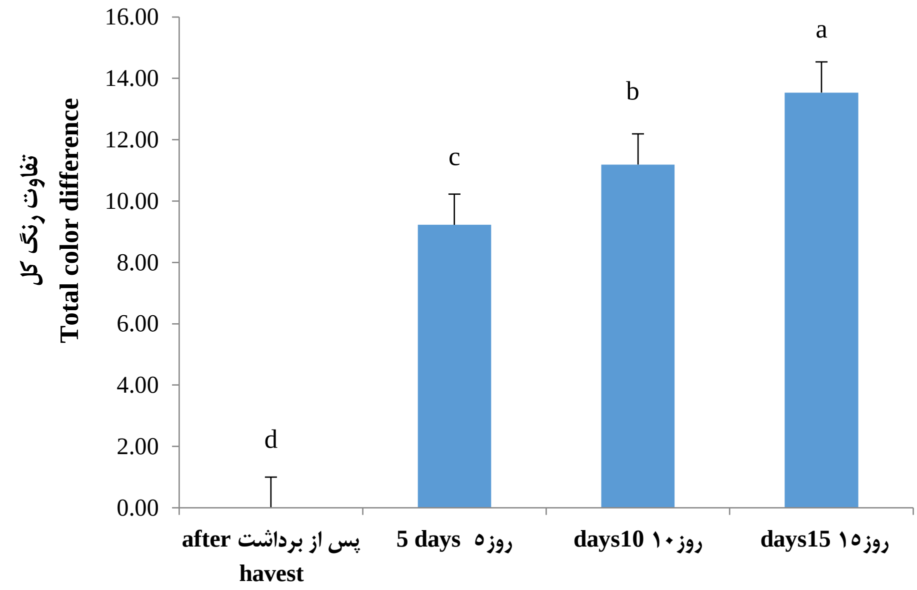
The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

تفاوت رنگ کل

تفاوت رنگ کل در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، افزایش یافت (p<۰/۰۵) (شکل ۹). تفاوت رنگ کل تحت تأثیر برهم‌کنش غلظت کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بود و نمونه خیار پوشش‌داده شده با کیتوزان ۱ درصد و اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای تفاوت رنگ کمتری بود (شکل ۱۰). بر هم‌کنش مدت نگهداری، نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار تأثیر داشت و پس از ۱۵ روز نگهداری در میوه‌های شاهد بیشترین میزان تفاوت رنگ مشاهده شد (شکل ۱۱). رنگ پوست تأثیر مستقیمی بر ارزیابی حسی خیار دارد و از تفاوت رنگ کل برای نشان دادن تغییرات رنگ پوست استفاده می‌شود. پوشش‌دهی به دلیل ایجاد اتمسفر تغییریافته بین سطح میوه و پوشش، از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کند و درنتیجه میزان تغییر رنگ به حداقل می‌رسد (Mohammadi *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Hamzah *et al.*, 2013). لی و همکاران (Li *et al.*, 2021)، اعلام نمودند که میزان تفاوت رنگ کل در نمونه‌های خیار با گذشت زمان افزایش پیدا کرد، اما تغییر رنگ در نمونه‌های تیمار شده با پوشش دولایه پلی اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های شاهد بود. در میوه خیار پوشش‌داده‌شده در نانوکیتوزان و ترانس‌سینامالدهید، میزان کلروفیل در پایان مدت زمان نگهداری بیشتر از میوه شاهد بود (Isturiz-Zapata *et al.*, 2020).

بار میکروبی سطح خیار

نتایج آنالیز واریانس اثرات غلظت پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر ویژگی‌های میکروبی میوه خیار در جدول ۲، نشان داده شده‌است. نتایج نشان داد که غلظت کیتوزان بر میزان شمارش کلی میکروبی و میزان کپک و مخمر اثر معنی‌دار نشان داد (p< ۰/۰۵). نوع اسانس و غلظت اسانس بر میزان شمارش کلی و کپک و مخمر تأثیر معنی‌داری داشت (p< ۰/۰۵). همچنین میزان کپک و مخمر با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس‌روغنی کاهش یافت (شکل ۱۲). برهم‌کنش نوع و غلظت اسانس نشان داد، اسانس تیمول نسبت به ترانس‌سینامالدهید دارای توانایی بالاتری در ممانعت از رشد کپک و مخمر بود (شکل ۱۳). به‌علاوه برهم‌کنش غلظت کیتوزان و غلظت اسانس مشخص کرد که افزایش غلظت کیتوزان و اسانس‌روغنی سبب کاهش شمارش کلی میکروبی شد (شکل ۱۴). تیمار خیار با پوشش ۱ درصد کیتوزان + ۰/۵ درصد اسانس، سبب بهبود پایداری میکروبی خیار گردید. ممانعت از رشد میکروبی در سطح خیار را می‌توان از دو دیدگاه ارزیابی نمود؛ تأثیر کیتوزان و اسانس‌روغنی. محققان مختلف ویژگی ضدمیکروبی کیتوزان را بررسی نموده‌اند. مشخص شده است که کیتوزان در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی بر روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و کپک و مخمر فعالیت ضد میکروبی دارد (Abdelghany *et al.*, 2019; Goy *et al.*, 2009).

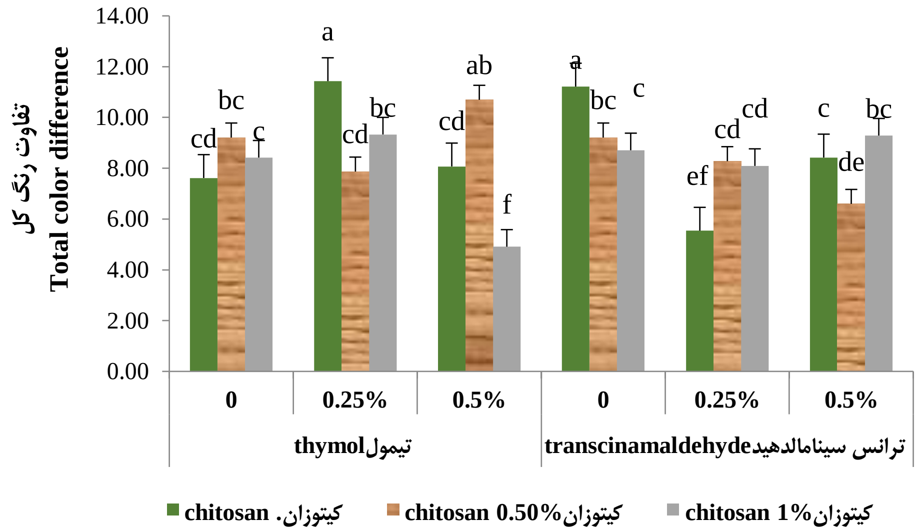


شکل ۹- اثر مستقل مدت نگهداری بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار

Fig. 9. Independent effect of storage time on total color difference in cucumber fruit

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p<0.05$).

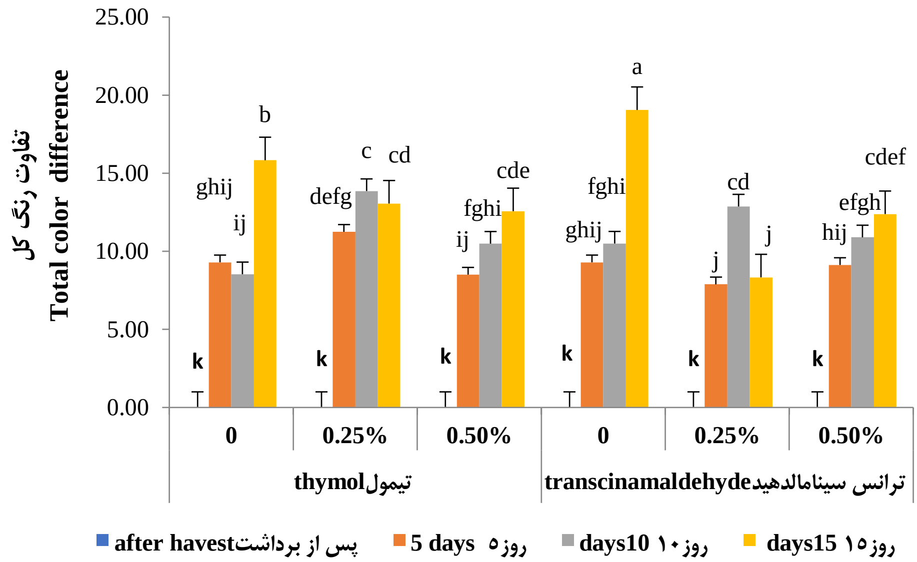


شکل ۱۰- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار

Fig. 10. Effect of chitosan coating, and essence type and concentration on total color difference in cucumber fruit

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p<0.05$).



شکل ۱۱- اثر نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 11. Effect of essence type and concentration on total color difference of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصداست (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

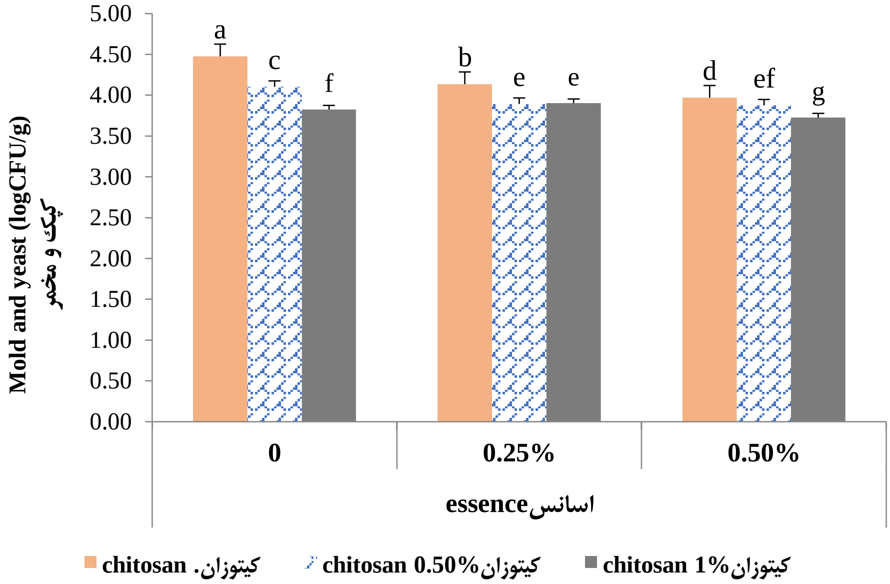
از سوی دیگر، مشخص شده است که اسانس‌روغنی تیمول و ترانس‌سینامالدهید دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند (Karathanos *et al.*, 2007). بنابراین می‌توان گفت استفاده از کیتوزان و اسانس‌روغنی به دلیل فعالیت ضدمیکروبی هر دو گروه، توانسته‌اند ماندگاری خیار تازه را افزایش دهند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2021)، به‌طور مشابه گزارش نمودند پوشش‌دهی خیار با استفاده از محلول کیتوزان حاوی اسانس‌روغنی اوژنول سبب کاهش معنی‌دار رشد میکروبی (شمارش کلی میکروبی، کپک و مخمر) شده است.

جدول ۲- میانگین مربعات غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر خصوصیات میکروبی در میوه خیار

Table 1- Mean square concentration of chitosan coating, type and concentration of essence on microbial characteristics in cucumber fruit

منابع تغییر Sources of Variables (SOV)	**درجه آزادی** Degrees of Freedom	**میانگین مربعات** Average Squares	
		شمارش کلی (log CFU × 10^5) Total Count (log CFU × 10^5)	**کپک و مخمر (log CFU × 10^3)** Mold and Yeast (log CFU × 10^3)
غلظت کیتوزان(A) (Chitosan Concentration)	2	618.67**	592.67**
نوع اسانس(B) (Essence Type)	1	98.66^{ns}	42.67**
اثر متقابل (A*B) Interaction Effect	2	26.96^{ns}	16.89**
غلظت اسانس(C) (Essence Concentration)	2	3412.06**	395.06**
اثر متقابل (A*C) Interaction Effect	4	1841.56**	189.22**
اثر متقابل (B*C) Interaction Effect	2	69.8^{ns}	11.17**
اثر متقابل (A*B*C) Interaction Effect	4	57.41^{ns}	7.39**
خطا(Error)	36	24.76	0.57

*,** and ns: Significant at 5% and 10% levels of probability and non significant, respectively

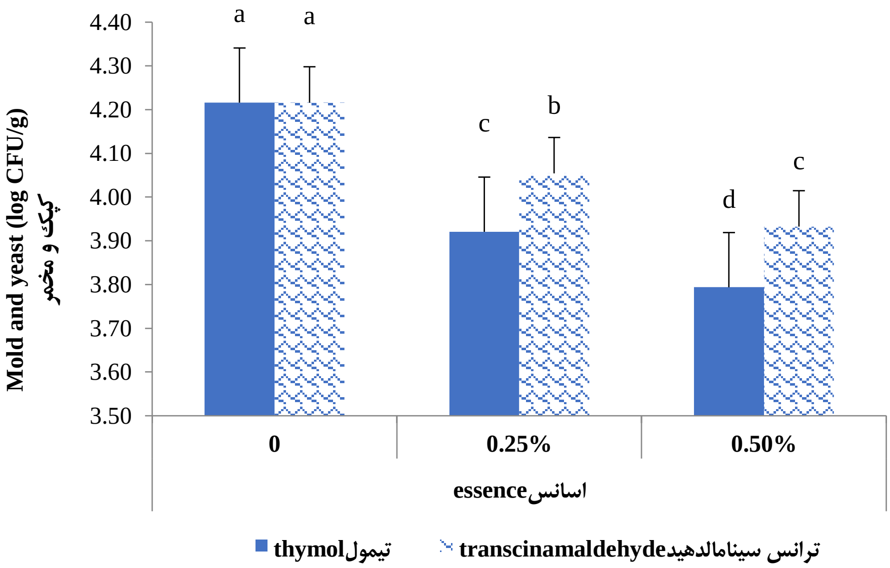


شکل ۱۲- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان و غلظت اسانس بر میزان کپک و مخمر در میوه خیار

Fig. 12. Effect of chitosan coating and essence concentration on mold and yeast in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p<0.05$).

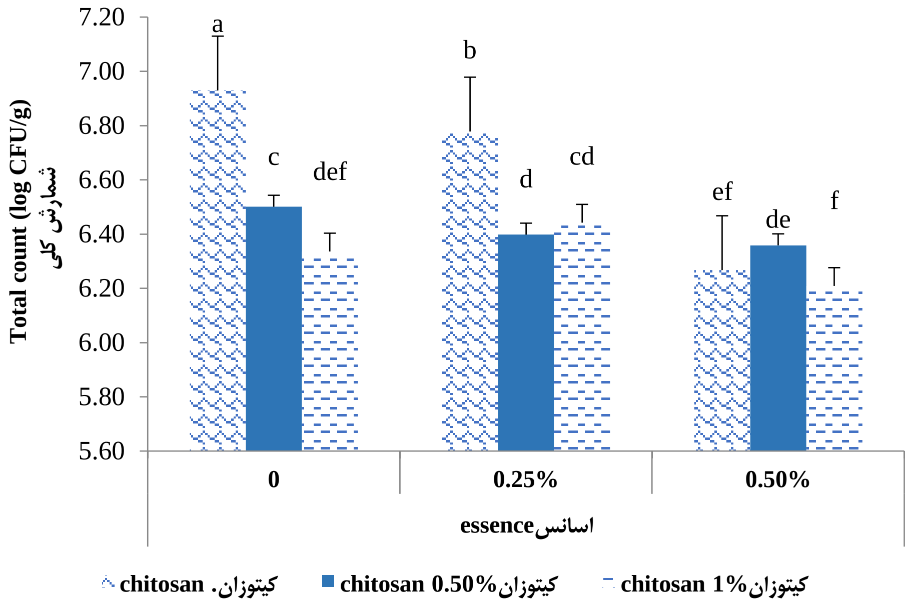


شکل ۱۳- اثر نوع و غلظت اسانس بر میزان کپک و مخمر در میوه خیار

Fig. 13. Effect of essence type and concentration on mold and yeast in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p<0.05$).



شکل ۱٤- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان و غلظت اسانس بر شمارش کلی میکروبی در میوه خیار

Fig. 14. Effect of chitosan coating and essence concentration on total microbial count in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است (p> ۰/۰۵).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level (p<0.05).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از پوشش چندلایه پکتین-کلرورکلسیم -کیتوزان حاوی اسانس‌های‌روغنی ریزپوشانی‌شده جهت پوشش‌دهی میوه خیار تازه به‌منظور افزایش زمان ماندگاری آن استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های مختلف خیار، میزان اسیدیته قابل‌تیتر و سفتی بافت کاهش و میزان مواد جامد محلول، میزان کاهش وزن و تفاوت رنگ کل افزایش یافت، اما پوشش‌دهی با کیتوزان و اسانس بر سرعت این تغییرات تأثیر مثبت گذاشت. همچنین، نتایج نشان داد که خیار تیمار شده با پوشش کیتوزان ۱ درصد حاوی ۰/۵ درصد اسانس روغنی تیمول، بالاترین میزان اسیدیته قابل‌تیتر، سفتی بافت و کمترین میزان مواد جامد محلول و تفاوت رنگ کل را داشت. به‌علاوه اسانس تیمول نسبت به ترانس‌سینامالدهید در ممانعت از رشد کپک و مخمر در خیار مؤثرتر بود. با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس‌روغنی میزان کپک و مخمر و شمارش کلی میکروبی کاهش یافت. بنابراین، داده‌های به‌دست آمده از این تحقیق دلالت بر این دارد که محلول پوشش‌دهی متشکل از ۱ درصد کیتوزان همراه با ۰/۵درصد اسانس روغنی تیمول می تواند به عنوان یک تیمار موثر در نظر گرفته شود که سبب کاهش فساد میکروبی و حفظ بهتر ویژگی‌های کیفی و خصوصیات رنگی در خیار گردد. بنابراین می‌توان این پوشش را به عنوان جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی جهت جلوگیری از فساد قارچی خیار و سایر میوه‌ها به کار برد، البته پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در این زمینه صورت پذیرد.

References

1. Abdelghany, A.M., Menazea, A.A., & Ismail, A.M. (2019). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of Chitosan/Polyvinyl Alcohol blend doped with *Hibiscus sabdariffa* L. extract. *Journal of Molecular Structure*, *1197*, 603-609. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.07.089
2. Adetunji, C.O., Fadiji, A.E., & Aboyeji, O.O.(2014). Effect of chitosan coating combined Aloe vera gel on cucumber (*Cucumis sativa* L.) post-harvest quality during ambient storage. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*, *5*(6), 391-397.
3. Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., & Alderson, P.G. (2014). Double layer coatings: a new technique for maintaining physico-chemical characteristics and antioxidant properties of dragon fruit during storage. *Food and Bioprocess Technology*, *7*, 2366-2374. https://doi.org/10.1007/s11947-013-1224-3
4. Aragüez, L., Colombo, A., Borneo, R., & Aguirre, A. (2020). Active packaging from triticale flour films for prolonging storage life of cherry tomato. *Food Packaging and Shelf Life*, *25*, 100520. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100520

5. Attokaran, M. (2017). *Natural food flavors and colorants*. Chap 98, 354-398. https://doi.org/10.1002/9781119114796
6. Aziziyan Dehkordi, B., Zamindar, N., Ghorbani, Z., & Mosaffa, L. (2020). Changes in the physicochemical and microbial properties of fresh-cut cucumber during storage as affected by modified atmosphere packaging and films of polypropylene containing clay nanoparticles. *Journal of Nutrition Science and Food Technology*, *15*(12), 83-62. (In Persian)
7. Boonsiriwit, A., Xiao, Y., Joung, J., Kim, M., Singh, S., & Lee, Y.S. (2020). Alkaline halloysite nanotubes/low density polyethylene nanocomposite films with increased ethylene absorption capacity: Applications in cherry tomato packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, *25*, 100533. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100533
8. Chen, A., Yang, Z., Zhang, N., Zhao, S., & Chen, M. (2015). Effects of cold shock intensity on physiological activity of harvested cucumbers during storage. *Scientia Horticulturae*, *197*, 420–427. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.056
9. Cid-López, M.L., Soriano-Melgar, L.D.A.A., García-González, A., Cortéz-Mazatán, G., Mendoza, E., Rivera-Cabrera, F., & Peralta-Rodríguez, R.D.(2021). The benefits of adding calcium oxide nanoparticles to biocompatible polymeric coatings during cucumber fruits postharvest storage. *Scientia Horticulturae*, *287*, 110285. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110285
10. Chien, P.J., Sheu, F., & Yang, F.H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, *78*, 225-229. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022
11. Eboibi, O., & Uguru, H. (2017). Storage conditions effect on physical, mechanical and textural properties of intact cucumber (cv Nandini) fruit. *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)*, *7*(11), 48-56.
12. Gelly, M., Recasens, I., Girona, J., Mata, M., Arbones, A., Rufat, J., & Marsal, J.(2004). Effects of stage II and postharvest deficit irrigation on peach quality during maturation and after cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(6), 561–568. https://doi.org/10.1002/jsfa.1686
13. Goy, R.C., Britto, D.D., & Assis, O.B. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, *19*(3), 241-247. https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013
14. Hamzah, H.M., Osman, A., Tan, C.P., & Ghazali, F.M. (2013). Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Postharvest Biology and Technology*, *75*, 142–146. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.08.012
15. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Del Valle, V., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria× ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, *110*(2), 428-435. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.020
16. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M.J., & Gavara, R. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, *39*(3), 247-253. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.006
17. ISO 4833-1. (2013). Microbiology of the food chain -Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. 1st. Edition. 9 pages. (In Persian)
18. ISO 21527-1. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and molds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. 1st. Edition. 8 pages. (In Persian)
19. Istúriz-Zapata, M.A., Hernández-López, M., Correa-Pacheco, Z.N., & Barrera- Necha, L.L. (2020). Quality of cold-stored cucumber as affected by nanostructured coatings of chitosan with cinnamon essential oil and cinnamaldehyde. *LWT - Food Science and Technology*, https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109089
20. Karathanos, V.T., Mourtzinos, I., Yannakopoulou, K., & Andrikopoulos, N.K. (2007). Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β-cyclodextrin. *Food Chemistry*, *101*(2), 652-658. https://doi.org/10.1016/j.FOODCHEM.2006.01.0537
21. Koseki, S., Kyoichiro, Y., Seiichiro, I., & Kazuhiko, I. (2004). Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. *Journal of Food Protection*, *67*, 1247-1251. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1247
22. Krzemiski, A., Marudova, M., Moffat, J., Noel, T.R., Parker, R., & Welliner, N. (2006). Deposition of pectin/ poly-l- lysine multilayers with pectin of varying degrees of esterification. *Biomacromolecules*, *7*(2), 498-506. https://doi.org/10.1021/bm0507249
23. Li, M., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2021). Effects of double layer membrane loading eugenol on postharvest quality of cucumber. *LWT*, 145, 111310. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111310
24. Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *6*(3), 60-75. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00018.x

25. Maleki, G., Sedaghat, N., Woltering, E.J., Farhoodi, M., & Mohebbi, M. (2018). Chitosan-limonene coating in combination with modified atmosphere packaging preserve postharvest quality of cucumber during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*, 1610-1621. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9776-6
26. Mantilla, M., Castel-Perez, M.E., Gomes, C., & Moreira, R.G. (2013). Multilayered antimicrobial edible coating and its effect on quality and shelf -life of fresh cut pineapple (*Ananas comosus*). *LWT-Food Science and Technology*, *51*, 37-43. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.010
27. Martinon, M.E., Moreira, R.G., Castel-Perez., & Gomes, C. (2014). Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4º. *LWT - Food Science and Technology*, *56*, 341-350. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.043
28. Marudova, M., Lang, S., Brownsey, G.J., & Ring, S.G. (2005). Pectin–Chitosan multilayer formation. *Carbohydrate Research*, *340*, 2144–2149. https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.07.004
29. McGuire, R. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hortscience*, *27*(12), 1254-1255.
30. Mohammadian, M., Waly, M.I., Moghadam, M., Emam-Djomeh, Z., Salami, M., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2020). Nanostructured food proteins as efficient systems for the encapsulation of bioactive compounds. *Food Science and Human Wellness*, *9*(3), 199-213. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.04.009
31. Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S.M. (2016). Postharvest treatment of nanochitosan-based coating loaded with *Zataria multiflora* essential oil improves antioxidant activity and extends shelf-life of cucumber. *Innovative Food Science &Emerging Technologie*, *33*, 580-588. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.015
32. Moalemiyan, M., & Ramaswamy, H.S. (2012). Quality retention and shelf-life extension in Mediterranean cucumbers coated with a pectin-based film. *Journal of Food Research*, *1*(3), 159-168. https://doi.org/10.5539/JFR.V1N3
33. Mourtzinos, I., Kalogeropoulos, N., Papadakis, S.E., Konstantinou, K., & Karathanos, V.T. (2008). Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in β-Cyclodextrin and modified starch. *Journal of Food Science*, *73*(1), 89-94. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00609.x
34. Omoba, O.S., & Onyekwere, U. (2016). Postharvest physicochemical properties of cucumber fruits (*Cucumber sativus* L.) treated with chitosan-lemon grass extracts under different storage durations. *African Journal of Biotechnology*, *15*(50), 2758-2766. https://doi.org/10.5897/AJB2016.15561
35. Pérez-Santaescolástica, C., Munekata, P.E., Feng, X., Liu, Y., Bastianello Campagnol, P.C., & Lorenzo, J.M. (2020). Active edible coatings and films with Mediterranean herbs to improve food shelf-life. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1853036
36. Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, *4*(6), 1457-1465. https://doi.org/10.1021/bm034130m
37. Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids*, *51*, 327-337. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.033
38. Sarker, A., Deltsidis, A., & Grift, T.E. (2021). Effect of Aloe vera gel-carboxymethyl cellulose composite coating on the degradation kinetics of cucumber. *Journal of Biosystems Engineering*, *46*, 112-118.
39. Serna-Escolano, V., Serrano, M., Valero, D., Rodríguez-López, M.I., Gabaldón, J.A., Castillo, S., & Martínez-Romero, D. (2019). Effect of thymol and carvacrol encapsulated in Hp-β-Cyclodextrin by two inclusion methods against *Geotrichum citri-aurantii*. *Journal of Food Science*, *84*(6), 1513-1521. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14670
40. Simionato, I., Domingues, F.C., Nerín, C., & Silva, F. (2019). Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanosponges and their potential use for antimicrobial food packaging. *Food and Chemical Toxicology*, *132*, 110647.
41. Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., & Adams, T.B. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, *43*(3), 345-363. https://doi.org.10.1016/j.fct.2004.11.007
42. Shahdadi Sardo, A., Sedaghat, N., Taghizadeh, M., & Milani, E. (2017). Effect of packaging type and chitosan edible coating on the physico-chemical and sensory characteristics of Royal greenhouse cucumber during storage conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *13*, 2(42), 363-378. (In Persian). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.41901
43. Turek, C., & Stintzing, F.C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *12*(1), 40-53. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006